



Year: 2010

Hereditäre Defekte hepatobiliärer Transportproteine

Mwinyi, J ; Kullak-Ublick, G A

Abstract: Defects in transport proteins that are expressed at the hepatocyte canalicular membrane can cause severe impairment of hepatobiliary transport processes. Progressive familial intrahepatic cholestasis (PFIC) typically manifests in early childhood. Genetic variants in the aminophospholipid transporter FIC1 (ATP8B1 gene) cause PFIC1, characterized by elevated serum bile acids but normal or only mildly elevated gamma-GT levels. Benign recurrent intrahepatic cholestasis type 1 (BRIC1) is also caused by ATP8B1 mutations. Defects in the function of the bile salt efflux pump (BSEP, ABCB11) cause PFIC2 or BRIC2, depending upon the degree of BSEP impairment. A common BSEP variant, the V444A polymorphism, is commonly found in various types of cholestatic liver injury including drug-induced liver injury (DILI). Finally, dysfunction of the multidrug resistance gene product MDR3 (ABCB4) leads to PFIC3, characterized by low biliary phospholipids and high gamma-GT levels in serum due to bile duct injury. All three transporter genes are also associated with intrahepatic cholestasis of pregnancy. Treatment options include UDCA for milder forms, or liver transplantation for severe pediatric cases.

DOI: <https://doi.org/10.1007/s11377-009-0345-8>

Posted at the Zurich Open Repository and Archive, University of Zurich

ZORA URL: <https://doi.org/10.5167/uzh-47205>

Journal Article

Accepted Version



The following work is licensed under a Creative Commons: Attribution 3.0 Unported (CC BY 3.0) License.

Originally published at:

Mwinyi, J; Kullak-Ublick, G A (2010). Hereditäre Defekte hepatobiliärer Transportproteine. *Der Gastroenterologe*, 5(1):39-48.

DOI: <https://doi.org/10.1007/s11377-009-0345-8>

Hereditäre Defekte hepatobiliärer Transportproteine

englisch: Hereditary defects of hepatobiliary transport proteins

Jessica Mwinyi, Gerd A. Kullak-Ublick

Korrespondenzadresse:

Prof. Dr. med. Gerd A. Kullak-Ublick
Klinik für Klinische Pharmakologie und Toxikologie
UniversitätsSpital Zürich
Rämistrasse 100
CH-8091 Zürich
Schweiz
Tel.: + 41 44 255 2068
Fax: + 41 44 255 4411
Email: gerd.kullak@usz.ch

Gerd A. Kullak-Ublick, M.D.
Division of Clinical Pharmacology and Toxicology
University Hospital Zurich
Rämistrasse 100
CH-8091 Zurich
Switzerland
Tel.: + 41 44 255 2068
Fax: + 41 44 255 4411
Email: gerd.kullak@usz.ch

Zusammenfassung

Eine gestörte Funktion hepatobiliärer Transportproteine kann zu schweren hereditären cholestatischen Leberkrankheiten führen. Die progressive familiäre intrahepatische Cholestase (PFIC) manifestiert sich im frühen Kindesalter. Varianten des FIC1 Aminophospholipid-Transporters (*ATP8B1* Gen) verursachen sowohl die PFIC1, wie auch die benigne rezurrente intrahepatische Cholestase Typ 1 (BRIC1). Ein Funktionsverlust der Gallensäuren-Effluxpumpe BSEP (*ABCB11*) führt zu PFIC2 oder BRIC2. Eine häufige BSEP-Variante, der V444A Polymorphismus, wird häufig bei verschiedenen Arten von Cholestase gefunden, unter anderem bei medikamentös induzierten Leberschäden. Schliesslich führt die Dysfunktion des „multidrug resistance gene product 3“ (MDR3, *ABCB4*) zu PFIC3, welche mit niedrigen biliären Phospholipiden und, aufgrund von Gallengangsschädigungen, hohen gamma-GT-Konzentrationen im Serum einhergeht. Alle drei Transportergene sind auch mit gewissen Formen der intrahepatischen Schwangerschaftscholestase assoziiert. Die Behandlungsoptionen umfassen die Gabe von UDCA bei milderer Verlaufsformen, bis hin zur Lebertransplantation bei schweren pädiatrischen cholestatischen Leberkrankheiten.

Abstract

Defects in transport proteins that are expressed at the hepatocyte canalicular membrane can cause severe impairment of hepatobiliary transport processes. Progressive familial intrahepatic cholestasis (PFIC) typically manifests in early childhood. Genetic variants in the aminophospholipid transporter FIC1 (*ATP8B1* gene) cause PFIC1, characterized by elevated serum bile acids but normal or only mildly elevated gamma-GT levels. Benign recurrent intrahepatic cholestasis type 1 (BRIC1) is also caused by *ATP8B1* mutations. Defects in the function of the bile salt efflux pump (BSEP, *ABCB11*) cause PFIC2 or BRIC2, depending upon the degree of BSEP impairment. A common BSEP variant, the V444A polymorphism, is commonly found in various types of cholestatic liver injury including drug-induced liver injury (DILI). Finally, dysfunction of the multidrug resistance gene product MDR3 (*ABCB4*) leads to PFIC3, characterized by low biliary phospholipids and high gamma-GT levels in serum due to bile duct injury. All three transporter genes are also associated with intrahepatic cholestasis of pregnancy. Treatment options include UDCA for milder forms, or liver transplantation for severe pediatric cases.

Schlüsselwörter

Cholestase – Transportproteine – Haplotypen – nukleäre Rezeptoren – Cholelithiasis

Key words

Cholestasis – transport proteins – haplotypes – nuclear receptors – gallstone disease

Interessenkonflikt: Es besteht kein Interessenkonflikt

Hereditäre Defekte hepato-biliärer Transportproteine

Definition cholestatischer Leberkrankheiten

Der Begriff „Cholestase“ wird allgemein als Störung oder Verlangsamung des Galleflusses aufgrund von intrahepatischen oder extrahepatischen pathologischen Veränderungen definiert [1]. Dabei kann eine Vielzahl von Gründen zu einer Modulation des Galleflusses führen und die genauere Definition einer Cholestase je nach pathogenetischem Blickwinkel unterschiedlich ausfallen.

Der enterohepatische Kreislauf von Gallensäuren

Neben ihrer zentralen Aufgabe, endogene und exogen zugeführte Verbindungen zu detoxifizieren ist die Leber für die Synthese und Sekretion der Galle verantwortlich. Die Galle ist ein wichtiger Eliminationsweg für hepatisch metabolisierte Substanzen und für Cholesterin. Durch die emulgierende Wirkung der Gallensäuren (GS) können fettlösliche Vitamine und andere lipidlösliche Nahrungsbestandteile über den Darm resorbiert werden. GS werden aus Cholesterin synthetisiert. Die GS werden mit den Aminosäuren Taurin oder Glycin konjugiert und liegen anschliessend grösstenteils im dissoziierten Zustand vor. Sie werden daher auch als Gallensalze bezeichnet. Der GS-Pool besteht zu 90% aus primären GS, die sich zu 60% aus Cholsäure (CA) und zu 40% aus Chenodeoxycholsäure (CDCA) zusammensetzen. Sekundäre GS wie Deoxycholsäure (DCA), Ursodeoxycholssäure (UDCA) oder Lithocholat machen lediglich 5% des GS-Pools aus [2]. Nach ihrer Synthese in der Leber werden Gallensäuren gegen einen Gradienten aktiv durch spezialisierte Transportsysteme aus dem Hepatozyten in das kanalikuläre Gallengangssystem sezerniert. Eine wichtige Rolle spielt hier vor allem der Gallensäuretransporter BSEP (Bile salt export pump), ein Vertreter der sogenannten ABC-Transporter (Genbezeichnung *ABCB11*) [3]. Die GS-Sekretion in das kanalikuläre Lumen ist der eigentlich entscheidende Schritt für die Aufrechterhaltung des Galleflusses, der die Sekretion von Wasser und Elektrolyten über die kanalikuläre

Membran nach sich zieht. Neben den Gallensäuren werden zudem Phospholipide über das Transportprotein MDR3 (*ABCB4*), Cholesterin über ABCG5/ABCG8, konjugiertes Bilirubin, reduziertes Glutathion und anionische Konjugate über MRP2 (*ABCC2*) sowie verschiedene zytotoxische Kationen über MDR1 (*ABCB1*) in das kanalikuläre Lumen sezerniert. Die Galle gelangt nach Zwischenspeicherung in der Gallenblase über die abführenden Gallengänge in den Darm. Gallensäuren werden zu 95% im Darm rückresorbiert. Sie werden aktiv vom „apical sodium-dependent bile acid transporter“ (ASBT, *SLC10A2*) über die apikale Membran in das Darmepithel aufgenommen und gelangen nach Durchquerung des Enterozyten mit Hilfe des Transporter-Heterodimers OST α /OST β in die Portalvene und zurück zur Leber. Im letzten Schritt wird die Galle über die basolaterale (sinusoidale) Hepatozytenmembran durch den Natrium-abhängigen Transporter NTCP (*SLC10A1*) sowie durch „organic anion transporting polypeptides“ (OATPs) wieder in die Hepatozyten aufgenommen (Abb. 1) [4].

Während des enterohepatischen Kreislaufs durchlaufen die Gallensäuren teilweise verschiedene bakterielle Modifikationen, die zur Bildung von sogenannten sekundären und tertiären Gallensäuren führen.

Pathogenese der intrahepatischen Cholestase

Gallensäuren haben primär die Aufgabe als Detergenzien zu wirken und dadurch die Resorption von Fetten und lipidlöslichen wichtigen Nahrungsbestandteilen im Darm zu ermöglichen. Bei einer cholestatischen Leberkrankheit führt genau diese Eigenschaft der Gallensäuren zu Problemen: ein intrazellulärer Konzentrationsanstieg hydrophober Gallensäuren hat eine toxische, Zellwand-schädigende Wirkung auf die Hepatozyten zur Folge, die letztlich zur chronischen Leberschädigung bis hin zur Leberzirrhose führen kann [5].

Das abführende Gallenwegssystem bedient sich im physiologischen Zustand mindestens zweier unterschiedlicher Mechanismen, um sich vor dem toxischen Effekt von GS zu schützen. Zum einen

produziert das Gallenblasenepithel Mukus, um die apikale Membran gegen die GS zu schützen. Zum anderen bilden die durch MDR3 sezernierten Phospholipide gemischte Mizellen mit Cholesterin und GS und vermeiden somit zu hohe freie GS-Konzentrationen. Innerhalb der Leberzellen werden GS an zytosolische Proteine gebunden (z.B. an das Enzym 3-Hydroxysteroid-dehydrogenase). Eine hepatische Überladung mit GS wird zudem durch eine koordinierte transkriptionelle Regulation von Transportern und GS-synthetisierenden Enzymen (z.B. Cytochrom P450), die an der GS-Homöostase beteiligt sind, vermieden [6]. Nukleäre und Steroidrezeptoren, wie z.B. der Farnesoid-X-Rezeptor (FXR), „Pregnane X Receptor“ PXR, PPAR α , HNF4 α und GR α spielen bei der koordinierten Transportprotein-expression eine entscheidende Rolle [7-10].

Genetische Defekte in der Pathogenese der Cholestase

Hereditäre Defekte verschiedener Transportproteine sind mit einem weiten Spektrum an cholestatischen Lebererkrankungen ursächlich verbunden. Hierzu zählen unter anderem die PFIC (progressive familiäre intrahepatische Cholestase), BRIC (benigne rezurrente intrahepatische Cholestase) die Schwangerschaftscholestase (ICP, „intrahepatic cholestasis of pregnancy“), die Arzneimittel-induzierte Cholestase und die intrahepatische Cholelithiasis. Generell muss zwischen sogenannten „high impact“-Varianten, die mit progredient verlaufenden cholestatischen Syndromen assoziiert sind und sich bereits im Neonatal- oder spätestens im Kindesalter manifestieren und „low impact“-Varianten, die meist mit einem benignen, erst im adulten Alter auftretenden cholestatischen Krankheitsbild einhergehen, unterschieden werden. Zudem führen heterozygote Ausprägungen zu einer Prädisposition gegenüber Arzneimittel- oder Entzündungs-induzierten Formen der Cholestase (Abb. 2) [11].

FIC1 (*ATP8B1*) – PFIC 1

Das FIC1-Protein fungiert wahrscheinlich als eine Flippase und bindet Aminophospholipide wie Phosphatidylserin. Das kodierende Gen von FIC1, *ATP8B1*, ist auf

Chromosom 18q21-q22 lokalisiert. Das Protein wird in der kanalikulären Membran der Hepatozyten bzw. der apikalen Membran von Cholangiozyten und Enterozyten exprimiert und hilft entscheidend dabei, die asymmetrische Phospholipidkomposition der Zellmembran aufrecht zu erhalten, indem sie Aminophospholipide (APL) vom äusseren Blatt der Zellmembran zum inneren Zellmembranblatt transportiert [12]. Auf diese Weise werden wichtige Zellmembranfunktionen, wie z.B. die Erhaltung der für die geordnete Sekretion von GS, Cholesterin und Phospholipiden entscheidenden Lipidkomposition der kanalikulären Hepatozytenmembran, sowie die Beteiligung an Zellsignalwegen, aufrecht erhalten [13]. FIC1 wird in verschiedenen Geweben, wie Leber, Darm, Niere und Pankreas, exprimiert. Dies erklärt, warum sich pathologische Veränderungen in der FIC1-Aktivität oft auch extrahepatisch manifestieren [14]. Mutationen im FIC1 Gen führen im Allgemeinen zu einer schweren cholestatischen Leberkrankheit, die auch als PFIC1 („progressive familial intrahepatic cholestasis type 1“) oder „Byler's Disease“ bezeichnet wird [15]. Dieses Krankheitsbild, autosomal-rezessiv vererbt, äussert sich bereits in frühen Jahren in erhöhten Gallensäuren-, Bilirubin- und Transaminasenwerten im Serum und niedrigen biliären Gallensäurenkonzentrationen, bei gleichzeitig niedrigen gGT-Serumwerten (Abb. 3, [16]). Bereits im ersten Lebensjahr leiden die Patienten unter einem sehr starken Pruritus [17]. Die Krankheit zeigt im Allgemeinen einen rasch progredienten Verlauf und es bedarf nicht selten bereits im Kindesalter einer Lebertransplantation. Extrahepatische Manifestationsformen der PFIC1 umfassen Malabsorptionssyndrome und Diarrhoe, Pankreatitis und Nephrolithiasis. Der exakte Pathomechanismus, wie Mutationen im FIC1-Gen das Krankheitsbild der PFIC1 bewirken ist nicht abschliessend geklärt. Eine mögliche Ursache könnte die Tatsache sein, dass eine veränderte Aktivität von FIC1 mit einer verminderten Expression und/oder Aktivität des Farnesoid-X-Rezeptors einhergeht. Wahrscheinlich verursacht eine Störung der FIC1 Funktion eine veränderte FXR-abhängige Zellsignalkaskade, was

schliesslich zu einer PFIC1-Erkrankung führt [18].

Eine weitere Hypothese ist, dass ein Funktionsverlust der Flippaseaktivität und die damit verbundene Aufhebung der notwendigen asymmetrischen Phospholipidkomposition der kanalikulären Membran zu reduziertem Gallensäuretransport durch verminderte BSEP-Aktivität und so zu einer Cholestase führt, gekoppelt mit einer erhöhten Vulnerabilität der Membran gegenüber hydrophoben GS [15].

Ein weiteres klinisches Bild, dass durch Mutationen im FIC1-Gen ausgelöst wird, ist die BRIC1 (Summerskill-Tygstrup Syndrom). Dieses Krankheitsbild zeichnet sich durch wiederkehrende cholestatische Episoden aus, ohne zwangsläufig zu einer Zirrhose führen zu müssen. Die Krankheit kann sich sowohl im Kindes- wie auch im Erwachsenenalter erstmalig manifestieren. Man nimmt derzeit an, dass bei BRIC-Patienten noch eine Restaktivität des FIC1-Proteins vorhanden ist. Es muss davon ausgegangen werden, dass PFIC1 und BRIC1 Teil eines kontinuierlichen Spektrums unterschiedlicher Ausprägung desselben Krankheitsbildes sind, die durch Mutationen im FIC1-Gen hervorgerufen werden [11]. Klomp et al. untersuchte 180 PFIC1 und BRIC Familien, in denen er die verschiedensten Variantentypen, wie splicing-Mutationen, nonsense-, missense- und in frame-Mutationen identifizierte. *ATP8B1* Mutationen wurden in 30% der PFIC1-Patienten und in 40% der BRIC1-Patienten identifiziert. Dabei korrelierte die Schwere der Krankheit eindeutig mit dem Typ der Mutationen [19].

Polymorphe Formen des FIC1 Transporters sind ausserdem mit einem erhöhten Risiko für die Ausbildung einer ICP assoziiert.

BSEP (*ABCB11*) – PFIC2

BSEP ist der „rate-limiting“ kanalikuläre Gallensäuretransporter der Leber. Das kodierende Gen *ABCB11* ist auf dem Chromosom 2 lokalisiert. Mutationen im BSEP-Gen verursachen die sogenannte PFIC2 (progressive familial intrahepatic cholestasis type 2), die auch als „Byler's Syndrome“ oder „BSEP-disease“ bezeichnet wird. Bei dieser Form der cholestatischen Leberkrankheit werden Gallensäuren nicht mehr ausreichend aus den Hepatozyten in das kanalikuläre biliäre System transportiert, so dass

es zu einer Akkumulation von GS in den Hepatozyten kommt. Daraus resultiert eine progrediente Leberzellschädigung. Im Gegensatz zur PFIC1 ist die Zellschädigung lediglich auf die Hepatozyten beschränkt, da die Gallensäuren das kanalikuläre System gar nicht erst erreichen. Die PFIC2 zeichnet sich durch eine intensive Symptomatik mit Gelbsucht, starkem Pruritus, sowie Hepato- und Splenomegalie aus. PFIC2 Patienten müssen schon frühzeitig, meist bereits im Neonatalstadium, mit einer Lebertransplantation infolge Riesenzellhepatitis und daraus resultierender Leberinsuffizienz behandelt werden. Eine Vielzahl von genetischen Varianten im BSEP-Gen *ABCB11* sind mit der PFIC2 in Verbindung gebracht worden. Dabei handelt es sich sowohl um missense, als auch um nonsense und Deletionsmutationen, deren Auftreten mit der immunhistochemischen Expression von BSEP im Lebergewebe korreliert. Wichtige BSEP-Mutationen umfassen die Varianten E297G, D482G, R575X, R1057X, G982R, C336S, R1153C, K461E, R1153C, R1268Q, R1090X, G238V, S114R, S593R, del 695 sowie del 3213 [20, 21]. Die Varianten E297G und D482G, in etwa 30% der BSEP-disease Fälle vorliegend, führen zur Expression eines an sich funktionstüchtigen BSEP-Proteins, das nicht adäquat zur Zellmembran transportiert und dementsprechend nicht in die Zellmembran integriert wird. Neueste Befunde weisen darauf hin, dass die BSEP Funktion auch durch zirkulierende anti-BSEP Antikörper im Serum gestört werden kann [22]. In drei pädiatrischen Fällen kam es auf diese Weise zu einem Rezidiv der BSEP-Defizienz innerhalb des ersten Jahres nach Lebertransplantation.

Eine mildere Variante der PFIC2 ist die BRIC2, welche typischerweise mit der Entwicklung von Gallensteinen einhergeht und dadurch von der BRIC1 unterschieden werden kann. Genetische Varianten, die mit einem erhöhten Risiko für die Ausbildung einer BRIC2 einhergehen umfassen die Mutationen A570T, T293P, A926P, R1050C, R1128H, V444A, R432T und E297G [23] [24]. BRIC2-Erkrankungen können in eine PFIC2-Erkrankung übergehen und umgekehrt, so dass davon ausgegangen werden muss, dass beide Krankheitsbilder eher einem fließenden Spektrum verschieden

starker Krankheitsausprägungen angehören, als dass sie distinkt zu trennende Krankheitsbilder darstellen [11]. Neben rekurrent auftretenden Episoden von intensivem Pruritus mit Gelbsucht, Steatorrhoe, eventuell Übelkeit und Erbrechen sowie Gewichtsverlust zeichnet sich die BRIC2 durch erhöhte Bilirubin-, AP-, und Serum-GS-Werte bei normal bis gering erhöhten gGT-, ALT- und AST-Konzentrationen aus. Diese Krankheitsepisoden können über mehrere Monate anhalten. Im Intervall sind die Patienten symptomfrei und zeigen normale Laborwerte [17]. Wie FIC1- und MDR3-Varianten sind auch BSEP-Varianten mit der ICP assoziiert. Es kann davon ausgegangen werden, dass etwa 1% der ICP-Fälle BSEP-Mutationen aufweisen. Der Polymorphismus V444A ist signifikant mit der Ausbildung der ICP verknüpft [25, 26]. Im Gegensatz zur MDR3 assoziierten ICP gehen BSEP-assoziierte ICP Fälle nicht mit einer Erhöhung der gGT einher, was die pathogenetische Unterscheidung zu anderen Cholestaseformen erleichtert. Diese Differenzierung kann relevant sein, da die MDR3-assoziierte ICP ein höheres Risiko birgt, zu einem späteren Zeitpunkt eine chronische Leberschädigung zu induzieren [27]. Das kombinierte Vorliegen mehrerer Varianten in BSEP und MDR3 führt einem Fallbericht zufolge zu einer stärkeren Ausprägung einer Cholestase im Vergleich zu Mutationen in nur einem der beiden Gene [28].

BSEP-Genvarianten sind auch mit einem erhöhten Risiko für die Entwicklung eines Arzneimittel-induzierten Leberschadens in Verbindung gebracht worden. Dabei führt das Vorliegen des Polymorphismus V444A zu einem dreifach erhöhten Risiko, cholestatische Arzneimittel-assoziierte Nebenwirkungen zu entwickeln im Vergleich zu Nicht-V444A-Trägern [11] [29]. Die BSEP-Defizienz begünstigt zudem das Auftreten eines hepatozellulären Karzinoms im Kindesalter [30]. Bisher wurden keine starken Assoziationen zwischen BSEP-Mutationen und Cholangiopathien wie PBC oder PSC festgestellt [31].

MDR3 (ABCB4) – PFIC3

MDR3 wird vor allem in der kanalikulären Membran von Hepatozyten exprimiert. Das kodierende Gen *ABCB4* ist auf Chromosom 7 lokalisiert. MDR3 ist

eine „Flippase“, die aktiv Phospholipide, insbesondere das Phosphatidylcholin (Lecithin), vom inneren zum äusseren Blatt der Zellmembran transportiert. Phospholipide werden durch die Detergenzien-Wirkung von GS aus dem äusseren Blatt der Lipiddoppelschicht vom kanalikulären Lumen aus herausgelöst und stehen dann für die Mizellenbildung mit Gallensäuren und Cholesterin zur Verfügung. Sind nicht genügend Phospholipide vorhanden, führt dies zu toxischen Schädigungen an der apikalen Membran der Cholangiozyten und Hepatozyten [32]. Das klinische Bild, das mit diesem pathogenetischen Szenario verknüpft ist, ist die sogenannte PFIC3. Die PFIC3 ist oft mit „high impact“-Varianten im MDR3-Gen assoziiert. In einem Drittel der Variantenträger wird *ABCB4* gar nicht exprimiert [33]. Die PFIC3 zeichnet sich klinisch durch hohe gGT-Spiegel aus. Dies beruht auf der Tatsache, dass die gGT unter anderem an der apikalen Membran von Hepatozyten und Cholangiozyten lokalisiert ist und daher einen „duktalen Schaden“ anzeigt. Die Patienten zeigen schon im Kindesalter Gallengangsschäden sowie eine progredient verlaufende chronische Cholestase. In 50% der Fälle ist eine Lebertransplantation notwendig. Die fehlende Ausbildung von Mizellen führt auch zu einer erhöhten Lithogenität des Cholesterins. *ABCB4* Varianten sind mit der sogenannten „low-phospholipid-associated cholelithiasis“ (LPAC) assoziiert. Patienten mit LPAC leiden unter rezidivierend auftretenden Cholesterin-Gallensteinen sowie einer milden chronischen Cholestase. Ferner bilden sich im Rahmen einer LPAC vermehrt intrahepatische Steine aus. Das Risiko für eine Cholelithiasis ist *per se* bei Varianten in MDR3 und BSEP erhöht [34]. Auch die Inzidenz für die Ausbildung einer intrahepatischen Schwangerschaftscholestase (ICP) ist bei MDR3-Mutationen erhöht. Diese Form der ICP geht typischerweise mit erhöhten gGT-Werten einher [33]. MDR3-Mutationen werden zudem für ein erhöhtes Risiko Arzneimittel-induzierter Cholestasen (z.B. durch Verapamil, Cyclosporin A oder Vinblastin) verantwortlich gemacht [35]. Auch das Risiko für die Ausbildung nicht-Anastomose-assoziiierter intrahepatischer Gallengangsstrikturen (NAS) nach Lebertransplantation ist bei

Vorliegen von MDR3-Defekten erhöht [36].

ABCG5/ABCG8 Steroltransporter - Sitosterolämie

Die Sitosterolämie ist eine seltene autosomal-rezessiv vererbte Erkrankung, die durch Störungen in der Regulation des Phytosterolhaushalts (hier vor allem Sitosterol, Campesterol und Stigmasterol) hervorgerufen wird. Die betroffenen Patienten akkumulieren hohe Konzentrationen von mit der Nahrung zugeführten pflanzlichen Sterolen im Plasma und im Gewebe durch verstärkte intestinale Absorption und verminderte hepatobiliäre Exkretion [37]. Zwei Gene werden für diese Erkrankung verantwortlich gemacht. Sie kodieren für die Proteinmonomere ABCG5 und ABCG8, die der „ATP binding cassette“ (ABC) Transportproteinfamilie angehören. Sie können auch als „half-transporters“ bezeichnet werden, da sie erst durch Heterodimerisierung miteinander ihre volle Funktion erlangen. Die beiden kodierenden Gene sind auf Chromosom 2p21 Kopf an Kopf in einem 140 bp-Abstand lokalisiert [38]. Das Proteinheterodimer wird an den apikalen Membranen im Darm und im hepatobiliären System exprimiert. Hier ist der Transporter als Steroleffluxpumpe für die Exkretion von pflanzlichen Sterolverbindungen verantwortlich. Die Mutation eines der beiden Gene genügt, um das Krankheitsbild der Sitosterolämie hervorzurufen. Patienten zeigen bereits im Kindesalter signifikant erhöhte Cholesterin- und Sterolkonzentrationen im Plasma. Desweiteren zeichnet sich die Erkrankung durch die Ausbildung von Xanthomen im Bereich der Sehnen, Arthralgien, Splenomegalie und eine chronische Hämolyse aus. Die Patienten entwickeln im Krankheitsverlauf früh eine Arteriosklerose und haben ein stark erhöhtes Risiko für kardiovaskuläre Akutereignisse. Die hepatischen Transaminasen können leicht erhöht sein, sonst zeigen die betroffenen Personen jedoch keine Einschränkung der Leberfunktion [39]. Bisher wurden verschiedene Polymorphismen in ABCG5 und vor allem in ABCG8 gefunden, die mit der Ausbildung einer Sitosterolämie assoziiert sind. Viele der identifizierten Mutationen liegen in hochkonservierten Regionen eines der beiden Gene. Alle bisher

untersuchten Varianten stören entweder die Heterodimerisierung von ABCG5 mit ABCG8 oder blockieren den Transportproteintransfer vom Zytosol in die Plasmamembran, so dass in beiden Fällen die Transportfunktion defekt ist. Der ABCG5/ABCG8 Transporter lässt sich durch Ezetimib therapeutisch hemmen. Zudem muss eine Phytosterol-arme Ernährung angestrebt werden [38].

Diagnostik der PFIC-Erkrankungen

Eine PFIC-Erkrankung sollte bei Kindern angenommen werden, nachdem andere häufige Ursachen für eine Cholestase wie biliäre Atresie, Alagille Syndrom, α 1-Antitrypsin Mangel, zystische Fibrose oder extrahepatische Gallengangsobstruktion ausgeschlossen wurden. Auch angeborene Störungen der GS-Synthese sind seltene Ursachen frühkindlicher Leberschädigungen und Gedeihstörungen [40]. Patienten mit PFIC1 und PFIC2 haben normale gGT-Serumwerte, aber erhöhte Serum-GS-Konzentrationen, während Patienten mit einer PFIC3 hohe gGT-Serumwerte zeigen (Tab. 1). Der Sonographiebefund ist bis auf eine eventuell prall gefüllte Gallenblase oder Gallensteine unergiebig. Die Cholangiographie zeigt meist normale Gallengangsstrukturen. Die Histologie zeigt bei PFIC3 eine Gallengangsproliferation [41]. Eine immunhistochemische Färbung mit Transporter-spezifischen Antikörpern kann Aufschluss darüber geben, ob ein Gendefekt zur fehlenden Expression eines Transportproteins führt [42, 43]. Auch eine biliäre Lipidanalyse, obwohl aufwendig, kann weitere differenzialdiagnostische Hilfestellungen geben. So zeigen PFIC2 Patienten stark erniedrigte (< 1 mM) und PFIC1-Patienten leicht erniedrigte ($3 - 8$ mM) biliäre GS-Konzentrationen. PFIC3-Patienten weisen dagegen normale biliäre GS-Konzentrationen auf. PFIC3-Patienten zeigen dafür stark erniedrigte Phospholipidwerte, wobei die Verhältnisse biliärer Gallensäuren : Phospholipid und Cholesterol : Phospholipid fünf- bis zehnmal höher sind als die Norm. Die biliären Phospholipidkonzentrationen scheinen invers mit der Schwere der MDR3-Mutation zu korrelieren [33].

Letztlich nachweisend für das Vorliegen einer FIC1-, BSEP- oder MDR3-assoziierten Cholestase ist jedoch die genetische Untersuchung. Je nach klinischem Verdacht kann gezielt nur ein Gen untersucht werden, bei unklaren Formen (z.B. im Erwachsenenalter, medikamentös induziert oder Schwangerschafts-assoziiert), können alle drei Gene sequenziert werden. Hierfür stehen verschiedene Labors zur Verfügung, z.B. in Zürich (<http://www.pharmakologie.usz.ch/HealthProfessionals/Dienstleistungen/Seiten/CholestatischeLebererkrankung.en.aspx>) oder in Amsterdam.

Therapeutische Strategien und Ausblick

Die einzig wirksame medikamentöse Therapiestrategie zur Behandlung der cholestatischen Lebererkrankung vom PFIC-Typ ist bisher die Gabe von Ursodeoxycholsäure (UDCA). UDCA ist eine hydrophile Gallensäure, die normalerweise nur einen sehr kleinen Anteil des humanen Gallensäuren-pools ausmacht. Es wird angenommen, dass UDCA sowohl die Gallensäuren-Effluxtransporter MRP2 und BSEP als auch die basolateralen Gallensäure-Exporttransporter MRP3 und MRP4 transkriptionell und posttranskriptionell aktiviert. Es wird ausserdem angenommen, dass UDCA antiapoptotische und antifibrotische Eigenschaften besitzt und multiple Signalkaskaden aktiviert [44-46]. Im Falle der PFIC1 und PFIC2 hat sich zudem die chirurgische biliäre Diversion als mögliche Therapiealternative bewährt. Präliminäre Daten weisen darauf hin, dass vor allem Träger der PFIC2-Varianten 482G oder E297G besonders gut auf die letztgenannte Therapiestrategie ansprechen [47, 48]. Wenn auch diese Therapieoption versagt, bleibt als letzter Schritt nur die Lebertransplantation. Vor diesem Hintergrund werden derzeit andere Therapieoptionen für die Zukunft entwickelt. Derzeit finden sich zum Beispiel FXR-Agonisten in der Prüfung, die die Expression von BSEP, OST α /OST β und MRP2 fördern und damit den Gallensäuren-Efflux aus den Hepatozyten steigern sollen [49]. Eine weitere mögliche Therapiestrategie der Zukunft ist die Anwendung von NorUDCA, ein in einer UDCA-Seitenkette verkürztes UDCA-Molekül, welches vor allem für die Behandlung der PSC eine

höhere Therapieerfolgsquote bringen soll. NorUDCA hat sich im Tierversuch in der Behandlung der sklerosierenden Cholangitis bereits bewährt. NorUDCA werden auch antifibrotische und antiinflammatorische Effekte nachgesagt [50, 51].

Es bleibt jedoch abzuwarten, ob sich diese neuen Therapieoptionen in den laufenden klinischen Phase II-Studien im Vergleich zu UDCA als besser erweisen.

Fazit für die Praxis

- Seltene Hereditäre Defekte hepatobiliärer Transportsysteme betreffen vor allem die Transporterproteine FIC1, BSEP, MDR3 und ABCG5/ABCG8.
- Es muss zwischen „high impact“- und „low impact“-Varianten in den genannten Transportern unterschieden werden, die für die Ausbildung einer Cholestase in Form einer PFIC oder BRIC mit Pruritus, Transaminasenanstieg, Steatorrhoe, Übelkeit und Hepatosplenomegalie in verschieden starker Ausprägung und Symptomkombination verantwortlich sind.
- Die Diagnostik erfordert ein kombiniertes Vorgehen mit Berücksichtigung der klinischen und Laborsymptomatik (gGT-Bestimmung), Leberhistologie, Immunhistochemie und Gensequenzierung.
- Die einzige derzeit gut erprobte medikamentöse Therapieoption im Falle der PFIC/BRIC ist die Gabe von UDCA. Nicht selten bleibt vor allem bei der PFIC nur der Ausweg einer Lebertransplantation.
- Derzeit finden sich weitere Therapiealternativen (NorUDCA, FXR-Agonisten) in der Entwicklung. Deren Wirksamkeit muss jedoch erst in klinischen Studien geprüft werden.

1. Kullak-Ublick, G.A., B. Stieger, and P.J. Meier, *Enterohepatic bile salt transporters in normal physiology and liver disease*. Gastroenterology, 2004. **126**(1): p. 322-42.
2. Byrne, J.A., et al., *The human bile salt export pump: characterization of substrate specificity and identification of inhibitors*. Gastroenterology, 2002. **123**(5): p. 1649-58.
3. Pauli-Magnus, C., et al., *Enterohepatic transport of bile salts and genetics of cholestasis*. J Hepatol, 2005. **43**(2): p. 342-57.
4. Monte, M.J., et al., *Bile acids: chemistry, physiology, and pathophysiology*. World J Gastroenterol, 2009. **15**(7): p. 804-16.
5. Trauner, M., et al., *Lessons from the toxic bile concept for the pathogenesis and treatment of cholestatic liver diseases*. Wien Med Wochenschr, 2008. **158**(19-20): p. 542-8.
6. Eloranta, J.J. and G.A. Kullak-Ublick, *Coordinate transcriptional regulation of bile acid homeostasis and drug metabolism*. Arch Biochem Biophys, 2005. **433**(2): p. 397-412.
7. Jung, D., M. Fried, and G.A. Kullak-Ublick, *Human apical sodium-dependent bile salt transporter gene (SLC10A2) is regulated by the peroxisome proliferator-activated receptor alpha*. J Biol Chem, 2002. **277**(34): p. 30559-66.
8. Jung, D., et al., *Human ileal bile acid transporter gene ASBT (SLC10A2) is transactivated by the glucocorticoid receptor*. Gut, 2004. **53**(1): p. 78-84.
9. Makishima, M., et al., *Identification of a nuclear receptor for bile acids*. Science, 1999. **284**(5418): p. 1362-5.
10. Kim, I., et al., *Differential regulation of bile acid homeostasis by the farnesoid X receptor in liver and intestine*. J Lipid Res, 2007. **48**(12): p. 2664-72.
11. Wagner, M., G. Zollner, and M. Trauner, *New molecular insights into the mechanisms of cholestasis*. J Hepatol, 2009. **51**(3): p. 565-80.
12. Ujhazy, P., et al., *Familial intrahepatic cholestasis 1: studies of localization and function*. Hepatology, 2001. **34**(4 Pt 1): p. 768-75.
13. Ismail, M.G., et al., *ABC-transporters are localized in caveolin-1-positive and reggie-1-negative and reggie-2-negative microdomains of the canalicular membrane in rat hepatocytes*. Hepatology, 2009. **49**(5): p. 1673-82.
14. Lykavieris, P., et al., *Progressive familial intrahepatic cholestasis type 1 and extrahepatic features: no catch-up of stature growth, exacerbation of diarrhea, and appearance of liver steatosis after liver transplantation*. J Hepatol, 2003. **39**(3): p. 447-52.
15. Cai, S.Y., et al., *ATP8B1 deficiency disrupts the bile canalicular membrane bilayer structure in hepatocytes, but FXR expression and activity are maintained*. Gastroenterology, 2009. **136**(3): p. 1060-9.
16. Gonzales, E., et al., *Liver diseases related to MDR3 (ABCB4) gene deficiency*. Front Biosci, 2009. **14**: p. 4242-56.
17. Alissa, F.T., R. Jaffe, and B.L. Shneider, *Update on progressive familial intrahepatic cholestasis*. J Pediatr Gastroenterol Nutr, 2008. **46**(3): p. 241-52.
18. Frankenberg, T., et al., *The membrane protein ATPase class I type 8B member 1 signals through protein kinase C zeta to activate the farnesoid X receptor*. Hepatology, 2008. **48**(6): p. 1896-905.
19. Klomp, L.W., et al., *Characterization of mutations in ATP8B1 associated with hereditary cholestasis*. Hepatology, 2004. **40**(1): p. 27-38.
20. Noe, J., et al., *Impaired expression and function of the bile salt export pump due to three novel ABCB11 mutations in intrahepatic cholestasis*. J Hepatol, 2005. **43**(3): p. 536-43.
21. Jansen, P.L., et al., *Hepatocanalicular bile salt export pump deficiency in patients with progressive familial intrahepatic cholestasis*. Gastroenterology, 1999. **117**(6): p. 1370-9.
22. Jara, P., et al., *Recurrence of bile salt export pump deficiency after liver transplantation*. N Engl J Med, 2009. **361**(14): p. 1359-67.
23. van Mil, S.W., et al., *Benign recurrent intrahepatic cholestasis type 2 is caused by mutations in ABCB11*. Gastroenterology, 2004. **127**(2): p. 379-84.
24. Kubitz, R., et al., *Benign recurrent intrahepatic cholestasis associated with mutations of the bile salt export pump*. J Clin Gastroenterol, 2006. **40**(2): p. 171-5.
25. Dixon, P.H., et al., *Contribution of variant alleles of ABCB11 to susceptibility to intrahepatic cholestasis of pregnancy*. Gut, 2009. **58**(4): p. 537-44.
26. Meier, Y., et al., *Increased susceptibility for intrahepatic cholestasis of pregnancy and contraceptive-induced cholestasis in carriers of the 1331T>C polymorphism in the bile salt export pump*. World J Gastroenterol, 2008. **14**(1): p. 38-45.
27. Pauli-Magnus, C., et al., *Sequence analysis of bile salt export pump (ABCB11) and multidrug resistance p-glycoprotein 3 (ABCB4, MDR3) in patients with intrahepatic cholestasis of pregnancy*. Pharmacogenetics, 2004. **14**(2): p. 91-102.
28. Keitel, V., et al., *Combined mutations of canalicular transporter proteins cause severe intrahepatic cholestasis of pregnancy*. Gastroenterology, 2006. **131**(2): p. 624-9.
29. Lang, C., et al., *Mutations and polymorphisms in the bile salt export pump and the multidrug resistance protein 3 associated with drug-induced liver injury*. Pharmacogenet Genomics, 2007. **17**(1): p. 47-60.
30. Knisely, A.S., et al., *Hepatocellular carcinoma in ten children under five years of age with bile salt export pump deficiency*. Hepatology, 2006. **44**(2): p. 478-86.
31. Pauli-Magnus, C., et al., *BSEP and MDR3 haplotype structure in healthy Caucasians, primary biliary cirrhosis and primary sclerosing cholangitis*. Hepatology, 2004. **39**(3): p. 779-91.
32. Oude Elferink, R.P. and C.C. Paulusma, *Function and pathophysiological importance of ABCB4 (MDR3 P-glycoprotein)*. Pflügers Arch - Eur J Physiol, 2007. **453**: p. 601-10.
33. Davit-Spraul, A., et al., *Progressive familial intrahepatic cholestasis*. Orphanet J Rare Dis, 2009. **4**: p. 1.
34. Rosmorduc, O. and R. Poupon, *Low phospholipid associated cholelithiasis: association with mutation in the MDR3/ABCB4 gene*. Orphanet J Rare Dis, 2007. **2**: p. 29.
35. Smith, A.J., et al., *MDR3 P-glycoprotein, a phosphatidylcholine translocase, transports several cytotoxic drugs and directly interacts with drugs as judged by interference with nucleotide*

- trapping. *J Biol Chem*, 2000. **275**(31): p. 23530-9.
36. Buis, C.I., et al., *Altered bile composition after liver transplantation is associated with the development of nonanastomotic biliary strictures*. *J Hepatol*, 2009. **50**(1): p. 69-79.
 37. Su, Y., et al., *Clinical and molecular genetic analysis of a family with sitosterolemia and co-existing erythrocyte and platelet abnormalities*. *Haematologica*, 2006. **91**(10): p. 1392-5.
 38. Oram, J.F. and A.M. Vaughan, *ATP-Binding cassette cholesterol transporters and cardiovascular disease*. *Circ Res*, 2006. **99**(10): p. 1031-43.
 39. Miettinen, T.A., et al., *Liver transplantation in a patient with sitosterolemia and cirrhosis*. *Gastroenterology*, 2006. **130**(2): p. 542-7.
 40. Kullak-Ublick, G.A. and P.J. Meier, *Mechanisms of cholestasis*. *Clin Liver Dis*, 2000. **4**(2): p. 357-85.
 41. Jacquemin, E., et al., *The wide spectrum of multidrug resistance 3 deficiency: from neonatal cholestasis to cirrhosis of adulthood*. *Gastroenterology*, 2001. **120**(6): p. 1448-58.
 42. Strautnieks, S.S., et al., *Severe bile salt export pump deficiency: 82 different ABCB11 mutations in 109 families*. *Gastroenterology*, 2008. **134**(4): p. 1203-14.
 43. Kullak-Ublick, G.A., et al., *Expression of the hepatocyte canalicular multidrug resistance protein (MRP2) in primary biliary cirrhosis*. *Hepatol Res*, 2002. **23**(1): p. 78-82.
 44. Beuers, U., *Drug insight: Mechanisms and sites of action of ursodeoxycholic acid in cholestasis*. *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol*, 2006. **3**(6): p. 318-28.
 45. Paumgartner, G. and T. Puhl, *Medical treatment of cholestatic liver disease*. *Clin Liver Dis*, 2008. **12**(1): p. 53-80, viii.
 46. Zollner, G., et al., *Role of nuclear bile acid receptor, FXR, in adaptive ABC transporter regulation by cholic and ursodeoxycholic acid in mouse liver, kidney and intestine*. *J Hepatol*, 2003. **39**(4): p. 480-8.
 47. Modi, B.P., et al., *Ileal exclusion for refractory symptomatic cholestasis in Alagille syndrome*. *J Pediatr Surg*, 2007. **42**(5): p. 800-5.
 48. Bustorff-Silva, J., et al., *Partial internal biliary diversion through a cholecystojejunocolonic anastomosis--a novel surgical approach for patients with progressive familial intrahepatic cholestasis: a preliminary report*. *J Pediatr Surg*, 2007. **42**(8): p. 1337-40.
 49. Claudel, T., et al., *The farnesoid X receptor: a novel drug target?* *Expert Opin Investig Drugs*, 2004. **13**(9): p. 1135-48.
 50. Fickert, P., et al., *24-norUrsodeoxycholic acid is superior to ursodeoxycholic acid in the treatment of sclerosing cholangitis in Mdr2 (Abcb4) knockout mice*. *Gastroenterology*, 2006. **130**(2): p. 465-81.
 51. Yoon, Y.B., et al., *Effect of side-chain shortening on the physiologic properties of bile acids: hepatic transport and effect on biliary secretion of 23-nor-ursodeoxycholate in rodents*. *Gastroenterology*, 1986. **90**(4): p. 837-52.